

10/552015

JC12 Rec'd PCT/PTO 11 OCT 2005

Express Mail Label No.

Dated: _____

Docket No.: 20241/0203472-US0 (PATENT)

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Patent Application of:
Nobuhiro Umeda et al.

Application No.: Not Yet Assigned

Confirmation No.: Not Yet Known

Filed: Concurrently Herewith

Art Unit: Not Yet Known

For: DIAMINE DERIVATIVE, PRODUCTION
PROCESS THEREFOR AND ANTIOXIDANT

Examiner: Not Yet Assigned

AFFIRMATION OF PRIORITY CLAIM

Mail Stop PCT
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Dear Sir:

Applicants hereby claim priority under 35 U.S.C. 119 based on the following prior foreign applications filed in the following foreign country on the dates indicated:

Country	Application No.	Date
Japan	2003-109665	April 14, 2003
Japan	2004-022719	January 30, 2004

Certified copies of the aforesaid Japanese Patent Applications were received by the International Bureau on June 3, 2004 during the pendency of International Application No. PCT/JP2004/005240. A copy of Form PCT/IB/304 is enclosed.

Dated: October 11, 2005

Respectfully submitted,

By Chris T. Mizumoto

Registration No.: 42,899
DARBY & DARBY P.C.

New York, New York 10150-5257
(212) 527-7700/(212) 753-6237 (Fax)
Attorneys/Agents For Applicants

日本国特許庁 13.4.2004
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されて
いる事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed
with this Office.

出願年月日 Date of Application: 2003年 4月14日

出願番号 Application Number: 特願 2003-109665

[ST. 10/C]: [JP 2003-109665]

出願人 Applicant(s): 日本曹達株式会社

REC'D 03 JUN 2004

WIPO

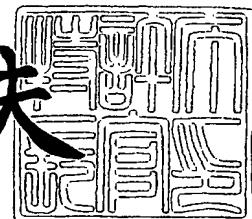
PCT

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 5月20日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康夫



【書類名】 特許願
【整理番号】 03P00009
【提出日】 平成15年 4月14日
【あて先】 特許庁長官殿
【国際特許分類】 C07C211/09
【発明者】
【住所又は居所】 神奈川県小田原市高田345 日本曹達株式会社 小田原研究所内
【氏名】 梅田 信広
【発明者】
【住所又は居所】 神奈川県小田原市高田345 日本曹達株式会社 小田原研究所内
【氏名】 望月 信夫
【発明者】
【住所又は居所】 神奈川県小田原市高田345 日本曹達株式会社 小田原研究所内
【氏名】 内田 誠一
【発明者】
【住所又は居所】 神奈川県小田原市高田345 日本曹達株式会社 小田原研究所内
【氏名】 池山 聖一
【特許出願人】
【識別番号】 000004307
【氏名又は名称】 日本曹達株式会社
【代表者】 槻橋 民普
【代理人】
【識別番号】 100107984
【弁理士】
【氏名又は名称】 廣田 雅紀

【選任した代理人】**【識別番号】** 100102255**【弁理士】****【氏名又は名称】** 小澤 誠次**【選任した代理人】****【識別番号】** 100118957**【弁理士】****【氏名又は名称】** 岡 晴子**【選任した代理人】****【識別番号】** 100120086**【弁理士】****【氏名又は名称】** ▲高▼津 一也**【手数料の表示】****【予納台帳番号】** 044347**【納付金額】** 21,000円**【提出物件の目録】****【物件名】** 明細書 1**【物件名】** 要約書 1**【包括委任状番号】** 9700920**【プルーフの要否】** 要

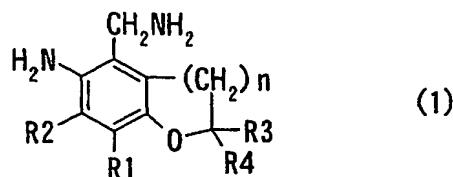
【書類名】 明細書

【発明の名称】 ジアミン誘導体、製造法および抗酸化薬

【特許請求の範囲】

【請求項1】 式(1)

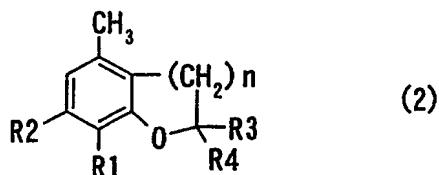
【化1】



(式中、R1、R2、R3、および、R4は、それぞれ独立して、水素原子またはC₁₋₆アルキル基を表し、nは、1または2の整数を表す。)
で表される化合物。

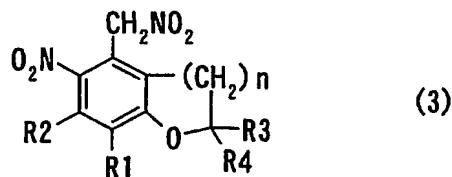
【請求項2】 式(2)

【化2】



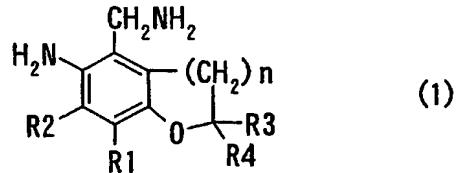
(式中、R1、R2、R3、R4、および、nは、前記と同じ意味を表す。)
で表される化合物をニトロ化して、式(3)

【化3】



(式中、R1、R2、R3、R4、および、nは、前記と同じ意味を表す。)
 で表される化合物を得る工程1、
 得られた化合物を還元剤を用いてアミノ基に変換する工程2、
 からなることを特徴とする式(1)

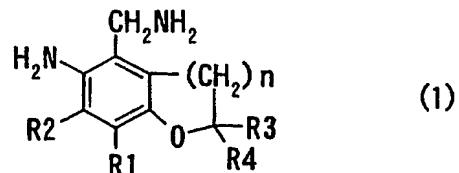
【化4】



(式中、R1、R2、R3、R4、および、nは、前記と同じ意味を表す。)
 で表される化合物の製造法。

【請求項3】 式(1)

【化5】



(式中、R1、R2、R3、R4、および、nは、前記と同じ意味を表す。)
 で表される化合物またはその薬学的に許容される塩の1種または2種以上を有効成分として含有することを特徴とする、抗酸化薬。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、ジアミン誘導体、製造法及び該化合物を有効成分とする抗酸化薬に関する。

【0002】

【従来の技術】

近年、生体内での過酸化脂質の生成とそれに付随したラジカル反応が、膜障害や細胞障害等を介して、生体に種々の悪影響を及ぼすことが明らかになってきた。それに伴い、抗酸化薬の医薬への応用が種々試みられており、これを基本骨格として抗酸化薬の研究がなされている。

【0003】

このような報告として、例えば、特許文献1～6、非特許文献1等があるが、これらに記載された薬剤は、抗酸化作用や組織移行性が不十分であったり、副作用が大きかったりして、実用的に必ずしも満足できるものでない。

【0004】

【特許文献1】

特開昭61-44840号公報

【特許文献2】

特開平1-104033号公報

【特許文献3】

特開平2-121975号公報

【特許文献4】

欧州特許出願公開第345593号明細書

【特許文献5】

欧州特許出願公開第483772号明細書

【特許文献6】

欧州特許出願公開第640609号明細書

【非特許文献1】

ジャーナル・オブ・アメリカン・オイル・ケミスト・ソサイアティ (J. A
m e r . O i l C h e m i s t s , S o c .) 、 1 9 7 4 年、 第 5 1 卷 、
P. 200-203

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、動脈硬化症をはじめ心筋梗塞、脳卒中などの虚血性臓器障害の治療あるいは酸化的細胞障害による疾患の治療に有効な抗酸化薬を提供することを課

題とする。

【0006】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記課題を解決すべく鋭意研究の結果、既存の抗酸化薬の効力が十分出ない原因是、薬剤が標的部位に到達しないか標的部位到達前に活性を失活してしまうためであると考え、より臓器移行性の良い特に血液脳関門を通過しやすい抗酸化薬の開発を目的として鋭意研究を重ねた結果、式（1）で示される化合物が当初の目的を達し、かつ、経口投与で優れた *in vivo* 抗酸化作用を持つことを見い出し、本発明を完成するに至った。

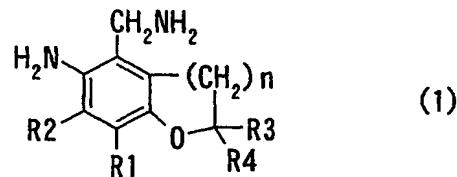
【0007】

すなわち本発明は、

(a) 式（1）

【0008】

【化6】



【0009】

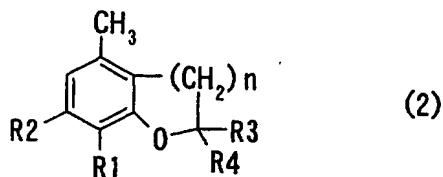
(式中、R1、R2、R3、および、R4は、それぞれ独立して、水素原子、または、C₁₋₆アルキル基を表し、nは、1または2の整数を表す。)
で表される化合物であり、

【0010】

(b) 式（2）

【0011】

【化7】

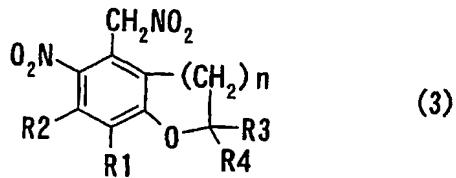


【0012】

(式中、R1、R2、R3、R4、および、nは、前記と同じ意味を表す。)
で表される化合物をニトロ化して、式(3)

【0013】

【化8】

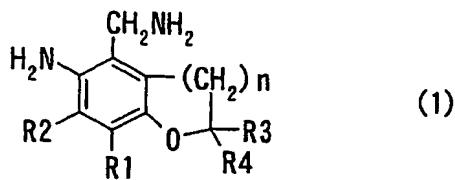


【0014】

(式中、R1、R2、R3、R4、および、nは、前記と同じ意味を表す。)
で表される化合物を得る工程1、
得られた化合物を、還元剤を用いてアミノ基に変換する工程2、
からなることを特徴とする式(1)

【0015】

【化9】



【0016】

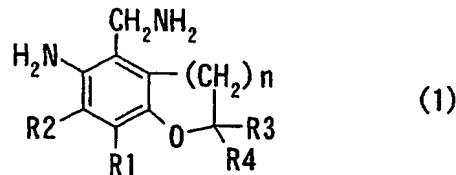
(式中、R1、R2、R3、R4、および、nは、前記と同じ意味を表す。)
で表される化合物の製造法であり、

【0017】

(c) 式 (1)

【0018】

【化10】



【0019】

(式中、R1、R2、R3、R4、および、nは、前記と同じ意味を表す。)で表される化合物またはその薬学的に許容される塩の1種または2種以上を有効成分として含有することを特徴とする、抗酸化薬に関する。

【0020】

【発明の実施の形態】

前記式(1)の定義においてR1、R2、R3、および、R4は、それぞれ独立して、水素原子、；または、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、sec-ブチル、イソブチル、t-ブチル等のC₁₋₆アルキル基；を表す。

【0021】

(化合物の製造方法)

本発明化合物である前記式(1)で表される化合物は、例えば、次のようにして製造することができるが、本発明化合物は一般的に知られる方法によっても合成することができ、この方法に限定されるものではない。

【0022】

(化合物の製造方法)

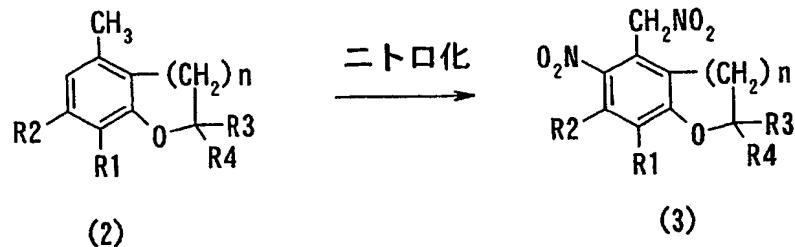
本発明化合物である前記式(1)で表される化合物は、例えば、次のようにして製造することができるが、本発明化合物は一般的に知られる方法によっても合成することができ、この方法に限定されるものではない。

【0023】

製造工程 1

[0 0 2 4]

【化 1 1】



【0025】

(式中、R1、R2、R3、R4、および、nは、前記と同じ意味を表す。)

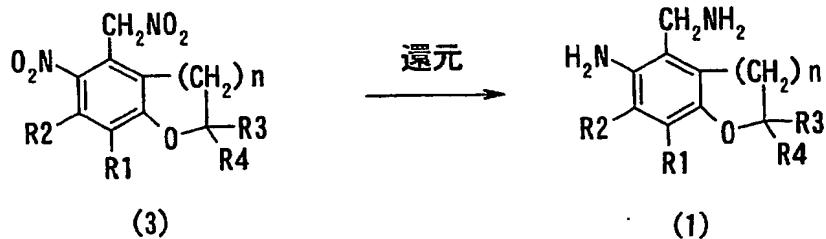
即ち、式(2)で示される化合物をニトロすることにより、式(3)で示される化合物を得るものである。このニトロ化反応は、酢酸あるいは無水酢酸中、硝酸あるいは発煙硝酸を用いてニトロ化するものである。反応は、-30℃から溶媒の沸点程度、好ましくは-10~30℃で行われる。

【0026】

製造工程 2

[0027]

【化 1 2】



【0028】

(式中、R1、R2、R3、R4、および、nは、前記と同じ意味を表す。)

【0029】

即ち、式(3)で示される化合物を触媒を用いて水素添加を行うことにより、式(1)で示される化合物を得るものである。触媒としては、パラジウム炭素、二酸化白金、ラネーニッケル等を挙げることができる。反応溶媒としては、メタノール、エタノール等のアルコール類、ジエチルエーテル、THF、1.4-ジ

オキサン等のエーテル類、ベンゼン、トルエン、キシレン、シクロヘキサン等の炭化水素類、DMF等のアミド類、ギ酸、酢酸等の有機酸類、酢酸エチル等のエステル類等およびこれらの混合溶媒を用いることができる。反応は、0℃～溶媒の沸点程度、好ましくは20～80℃で行われる。

本発明化合物の構造は、IR、NMR及びMS等から決定した。

【0030】

なお、前記式(1)で表せる本発明化合物、前記式(3)および前記式(4)で表せる原料化合物には、いくつかの光学活性体が存在し得る。これらは、すべて本発明の範囲に含まれる。

【0031】

前記式(1)で表される化合物の薬学的に許容される塩としては、塩酸、硫酸、硝酸、磷酸等の無機酸の塩や、酢酸、プロピオン酸、乳酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、サリチル酸、ニコチン酸、ヘプタグルコン酸等の有機酸の塩を挙げることができる。これらは、通常の合成化学的手法により容易に製造することができる。

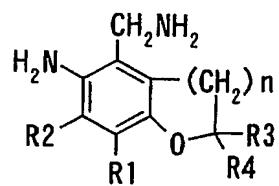
【0032】

以上のようにして製造することのできる本発明化合物(式(1))の代表例を、表1に示すが本発明化合物はこれに限定されるものではない。また、これらの薬学的に許容される塩酸塩等の塩も本代表例に含まれる。なお、表中の略記号は以下の意味を示す。

Me：メチル、Et：エチル、Pr：プロピル、Bu：ブチル、Pen：ペンチル、Hex：ヘキシル、n：ノルマル、i：イソ、t：ターシャリー

【0033】

【表1】



R1	R2	R3	R4	n
H	H	H	H	1
H	H	H	Me	1
H	H	Me	H	1
H	H	Me	Me	1
H	Me	H	H	1
H	Me	H	Me	1
H	Me	Me	H	1
H	Me	Me	Me	1
Me	H	H	Me	1
Me	H	H	Me	1
Me	H	Me	H	1
Me	H	Me	Me	1
Me	Me	H	H	1
Me	Me	Me	H	1
Me	Me	Me	Me	1
Me	Me	Me	Me	1
H	H	H	H	2
H	H	H	Me	2
H	H	Me	H	2
H	H	Me	Me	2
H	Me	H	H	2
H	Me	H	Me	2
H	Me	Me	H	2
H	Me	Me	Me	2
Me	H	H	Me	2
Me	H	H	Me	2
Me	H	Me	H	2
Me	H	Me	Me	2
Me	Me	H	H	2
Me	Me	Me	H	2
Me	Me	Me	Me	2
Me	Me	Me	Me	2

【0034】

(抗酸化薬)

本発明化合物は、抗酸化作用を有することから、低比重リポ蛋白 (Low density lipoprotein以下LDLと略記する) の酸化的変性を防ぐことによって動脈硬化病変の発生、進展を阻止することができ、動脈硬化の治療剤となりうるとともに、酸化作用に基づく各種疾病、例えば、老化痴呆性疾患、心臓病、癌、糖尿病、消化器疾患、熱傷、眼疾患、腎疾患等の治療剤としても有用である。さらに、脳卒中や心筋梗塞等の虚血性臓器疾患では、虚血部位の血液再灌流時に種々の活性酸素が発生し、脂質過酸化反応による細胞膜破壊等により組織障害が増悪される。抗酸化作用を有するこれらの本発明化合物は、種々の活性酸素や過酸化脂質を除去することにより、虚血病変部の組織障害を防ぐことができ、虚血臓器障害の治療薬となりうる。

【0035】

本発明化合物をこれらの医薬として投与する場合は、式(1)で表される本発明の化合物またはその薬学的に許容される塩の純粋な形または類似の有用性を有する薬剤の投与様式として許容されている任意の様式で行うことができる。例えば、経口、経鼻、非経口、局所、経皮または経直腸的に、固体、半固体、凍結乾燥粉末または液体の剤形、例えば、錠剤、坐薬、丸薬、軟質及び硬質カプセル、散薬、液剤、懸濁剤、エアゾル剤等として、正確な投与量を処方でき、かつ、簡便に投与することができる適当な剤形として行うことができる。

【0036】

また、組成物には、慣用の医薬用担体または賦形剤及び単独のまたは1種の活性成分として、式(I)で表される化合物を含有させるが、さらに他の薬剤、製剤用成分、担体、アジュバント等を包含させることもできる。

【0037】

医薬として許容される組成物は、式(1)の化合物もしくはその医薬的に許容される塩の1種または2種以上を、1~99重量%、及び適当な医薬用賦形剤99~1重量%を、意図された投与様式に応じて所定量含有する。組成物は、好ましくは、式(1)の化合物もしくはその薬学的に許容される塩の1種または2種

以上を、5～75重量%含有し、残部は適当な医薬的賦形剤とする。

【0038】

好ましい投与経路は経口であり、処置される疾病の程度に応じて調整される簡便な1日投与量基準が用いられる。このような経口投与用の組成物は、式(1)の化合物もしくはその薬学的に許容される塩の1種または2種以上、及び任意の通常用いられる賦形剤、例えば、医薬用のマニトール、乳糖、デンプン、ゼラチン化デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、タルク、セルロースエーテル誘導体、グルコース、ゼラチン、スクロース、クエン酸塩、没食子酸プロピル等を加えて形成される。

【0039】

このような組成物は、液剤、懸濁剤、錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、持続放出製剤、坐剤等の形態で使用される。

【0040】

また、このような組成物の場合は、例えば、乳糖、スクロース、リン酸二カルシウム等の希釈剤、例えば、クロスカルメロースナトリウムまたはその誘導体等の崩壊剤、例えば、ステアリン酸マグネシウム等の滑沢剤、例えば、デンプン、アラビアゴム、ポリビニルピロリドン、ゼラチン、セルロースエーテル誘導体等の結合剤等含有させることができる。

【0041】

坐剤の場合には、体内で徐々に溶解する担体、例えば、ポリオキシエチレングリコールまたはポリエチレングリコール(以下PEGと略記する)、例えば、PEG1000(96%)もしくはPEG4000(4%)に、式(1)の化合物または薬学的に許容される塩0.5～50重量%を分散して製剤化するのが好ましい。

【0042】

医薬として投与できる液体組成物は、式(1)の化合物もしくはその薬学的に許容される塩の1種または2種以上を0.5～50重量%、及び任意の医薬アジュバントを、水、食塩水、デキストロース水溶液、グリセロール、エタノール等の担体中に、溶解、分散させる等の処理を行い、溶液または懸濁液の形態とする

ことによって製造することができる。

【0043】

本発明の医薬組成物には、所望により、少量の補助物質、例えば、湿潤剤、乳化剤、pH緩衝剤、抗酸化剤等、例えば、クエン酸、ソルビタンモノラウレート、トリエタノールアミンオレエート、ブチル化ヒドロキシトルエン等を添加することもできる。

【0044】

このような製剤は、通常の方法、例えば、レミントン・ファルマステイカル・サイエンス (Remington's Pharmaceutical Sciences), 第18版, マック・パブリシング・カンパニー、イーストン、ペンシルバニア (Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania), 1990年刊等に教示される記載に従って製造することができる。

【0045】

式(1)で表される化合物もしくはその薬学的に許容される塩の1種または2種以上は、個人及び処置される疾病によって特徴づけられる病的状態に依存して変動する治療有効量で投与される。通常、治療有効1日用量は、体重1kgあたり、式(1)の化合物約0.14mg～約14.3mg／日であり、好ましくは、体重1kgあたり約0.7mg～約10mg／日、より好ましくは、体重1kgあたり約1.4mg～約7.2mg／日である。

【0046】

例えば、体重70kgのヒトに投与する場合、式(1)の化合物またはその薬学的に許容される塩の用量範囲は、1日約10mg～約1.0g、好ましくは、1日約50mg～約700mg、より好ましくは、1日約100mg～約500mgである。

【0047】

【実施例】

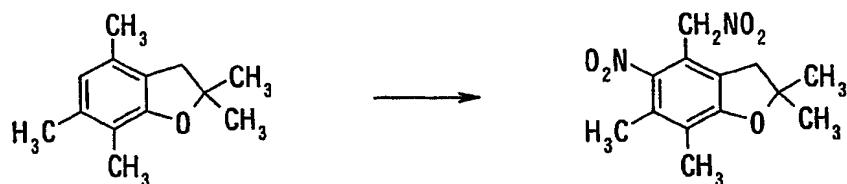
以下、実施例により本発明をより具体的に説明するが、本発明の技術的範囲はこれらの例示に限定されるものではない。

〔実施例1〕

(工程1) 2, 2, 6, 7-テトラメチル-4-ニトロメチル-5-ニトロジヒドロベンゾフランの製造

【0048】

【化13】



【0049】

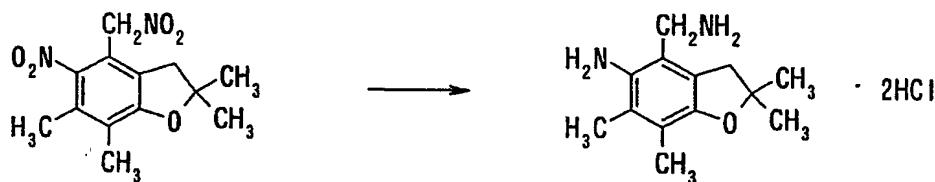
2, 2, 4, 6, 7-ペンタメチルジヒドロベンゾフラン 3. 80 g を無水酢酸 50 ml に溶解し、0℃を維持しながら硝酸 3. 2 ml を滴下した。0℃で2時間、室温で2時間攪拌した後、氷-水中に注ぎ、室温で1時間攪拌した。反応液をエーテル抽出し、飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥、溶媒を減圧留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ベンゼン：ヘキサン = 1 : 1、先に2, 2, 4, 6, 7-ペンタメチル-5-ニトロジヒドロベンゾフランが、次いで目的物が留出する）で精製し、目的物を 1. 40 g 得た。

【0050】

(工程2) 2, 2, 6, 6-テトラメチル-4-アミノメチル-5-アミノジヒドロベンゾフラン・2塩酸塩（化合物番号1）の製造

【0051】

【化14】



【0052】

オートクレーブに 2, 2, 6, 7-テトラメチル-4-ニトロメチル-5-ニ

トロジヒドロベンゾフラン 1. 40 g、20%水酸化パラジウム炭素 0. 35 g、酢酸 23 ml を加え、水素圧 5 kg/cm² 室温で 3 時間攪拌した。反応液をセライトろ過し、ろ液を減圧留去後、残渣にメタノール 23. 5 ml と塩酸 12 ml を加え 30 分間還流した。冷却後、反応液を減圧濃縮し、析出した結晶をエーテル洗浄して目的物を 1. 18 g 得た。融点 300 °C 以上

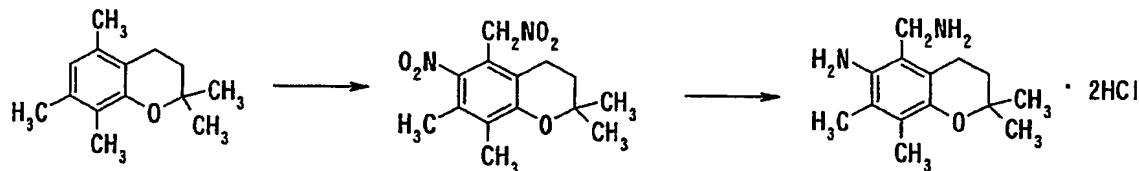
【0053】

【実施例2】

2, 2, 7, 8-テトラメチル-5-アミノメチル-6-アミノクロマン・2塩酸塩（化合物番号2）の製造

【0054】

【化15】



【0055】

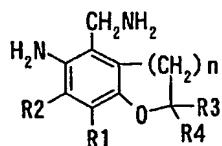
2, 2, 4, 6, 7-ペンタメチルジヒドロベンゾフランのかわりに 2, 2, 5, 7, 8-ペンタメチルクロマン 2. 0 g を用いて、実施例1と同様の方法で目的物 0. 70 g を得た。融点 219-225 °C

【0056】

上記のようにして製造された本発明化合物の構造式と物理恒数を表2および表3に示すが本発明はこれらによって限定されるものではない。なお略号、記号は表1と同じ意味を表す。

【0057】

【表2】



化合物番号	R 1	R 2	R 3	R 4	n	塩	物理恒数
1	Me	Me	Me	Me	1	2 HCl	融点 300°C以上
2	Me	Me	Me	Me	2	2 HCl	融点 219-225°C

【0058】

次に、本発明化合物を含有する製剤の製造例を挙げる。

製剤実施例1 経口剤（有効成分10mg錠）

【0059】

本発明化合物	10mg
乳糖	81.4mg
コンスター	20mg
ヒドロキシプロピルセルロース	4mg
カルボキシメチルセルロースカルシウム	4mg
ステアリン酸マグネシウム	0.6mg
合計	120mg

【0060】

上記のような組成となるように、本発明化合物の50g、乳糖407g及びコンスター100gを、流動造粒コーティング装置（大川原製作所（株）製）を使用して、均一に混合した。これに、10%ヒドロキシプロピルセルロース水溶液200gを噴霧して造粒した。乾燥後、20メッシュの篩を通し、これに、カルボキシメチルセルロースカルシウム20g、ステアリン酸マグネシウム3gを加え、ロータリー打錠機（畠鉄工所（株）製）で7mm×8.4Rの臼杵を使用して、一錠当たり120mgの錠剤を得た。

【0061】

次に、本発明化合物が優れた薬理活性を有することを、各種試験例により示す。

【0062】

薬理試験例1 In vitro 抗過酸化脂質作用

Malvyらの方法 (Malvy, c., et al.、バイオケミカル・アンド・バイオフィジカル・リサーチ・コミュニケーションズ (Biocchemical and Biophysical Research Communications.)、1980年、第95巻、P. 734-737に準じて、ラット脳ホモジネートでの過酸化脂質活性を測定した。即ち、ラット脳を摘出し、氷冷下、脳に5倍量のリン酸緩衝一生理食塩水溶液（以下PBSと略記する、pH 7.4）を加え、テフロン（R）ホモジナイザーでホモジナイズし、10,000gで20分間遠心分離し、上清の脳ホモジネートを調製した。調製した脳ホモジネートに500μMシステイン及び5μM硫酸第一鉄及び100mM KC1を加え、37℃で30分間インキュベートし、過酸化脂質の分解で生じたマロンジアルデヒドをチオバルビツール酸法で測定した。本発明化合物の50%阻害濃度（以下IC₅₀と略記する）を求めた。結果は表3に示す。

【0063】

【表3】

化合物番号	In vitro 抗過酸化脂質作用
	50%阻害濃度 (IC ₅₀ μM)
1	2.5
2	0.34
対照薬	1.4

【0064】

薬理試験例2 Ex vivo 抗過酸化脂質作用

本発明化合物の組織移行性は、ex vivo 抗過酸化脂質作用を測定することにより評価した。生理食塩水溶液或いは1%ポリエチレン硬化ヒマシ油（日光ケミカルズ社製 NIKKOL HCO-60）生理食塩水溶液に溶解或いは懸

濁した試験化合物を、一群3匹のSD系雄性ラット（6週齢）（日光SLC株式会社より入手）に100mg/kgの割合で腹腔内投与した。投与30分後に頸動脈を切断して放血死させ、脳、心臓、腎臓を摘出した。薬理試験例1に記載した方法で、各組織ホモジネートの過酸化脂質活性を測定した。本発明化合物の各組織における阻害率は対照群（生理食塩水投与群）と試験化合物投与群の過酸化脂質生成量から求めた。結果は表4に示す。

【0065】

【表4】

化合物番号	Ex vivo 抗過酸化脂質作用		
	脳	心臓	腎臓
1	93	81	83
2	98	96	97
対照薬	94	84	87

【0066】

薬理試験例3 In vivo 抗酸化作用

ジャーナル・オブ・メディシナル・ケミスリー（J. Med. Chem.）、1997年、第40巻、P. 559-573記載の方法に準じて、in vitro 抗酸化作用は塩化第一鉄のマウス脊髄くも膜下腔内投与による異常行動や死亡率の抑制効果から評価した。S1c：ICR系雄性マウス（5週）（日光SLC株式会社より入手）、一群3～7匹を用い、50mM塩化第一鉄の生理食塩水溶液をマウスの第5～第6腰椎間より脊柱管に5μl投与した。症状観察は、塩化第一鉄投与20分から60分行い、表5に示す症状から60分後のスコアを求めた。試験化合物は生理食塩水溶液或いは1%ポリエチレン硬化ヒマシ油（日光ケミカルズ社製NIKKOL HCO-60）生理食塩水溶液に溶解或いは懸濁し、塩化第一鉄投与30分前に腹腔内或いは経口投与した。本発明化合物の50%阻害用量（以下ID₅₀と略記する）は対照群（生理食塩水投与群）のスコアと試験化合物投与群のスコアから求めた。結果は表6に示す。

【0067】

【表5】

症状から得られるスコア対応表

スコア	症状
0	正常
1	下腹部または後軀端を頻繁に噛む
2	以下の変化が少なくとも1つ認められる 回転しつつ後軀を頻繁に噛む 外部刺激に対する過敏反応および攻撃反応 振戦
3	間代性痙攣
4	強直性痙攣または後軀麻痺
5	死亡

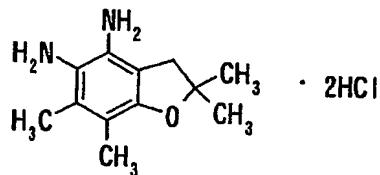
【0068】

【表6】

化合物番号	In vivo 抗酸化作用	
	50%阻害用量 (ID_{50} mg/kg)	
	腹腔内投与	経口投与
1	1.8	6.0
2	2.6	12.0
对照薬	>30.0	>30.0

【0069】

【化16】



【0070】

対照薬としてジャーナル・オブ・メディシナル・ケミストリー (J. Med. Chem.)、40巻、P. 559-573、1997年に記載された化合物を用

いた。

【0071】

【発明の効果】

本発明は、臓器移行性が良く特に血液脳関門を通過しやすく、かつ、経口投与で優れた *in vivo* 抗酸化作用を持つことから、動脈硬化症をはじめ心筋梗塞、脳卒中などの虚血性臓器障害の治療あるいは酸化的細胞障害による疾患の治療に有効な抗酸化薬を提供することができる。

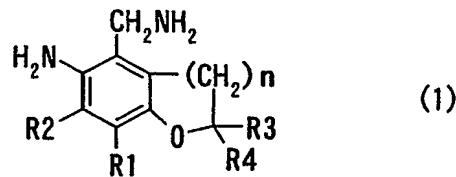
【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 本発明は、動脈硬化症をはじめ心筋梗塞、脳卒中などの虚血性臓器障害の治療あるいは酸化的細胞障害による疾患の治療に有効な抗酸化薬を提供すること。

【解決手段】 式(1)

【化1】



(式中、R1、R2、R3、または、R4は、それぞれ独立して、水素原子またはC₁₋₆アルキル基を表し、nは、1または2の整数を表す。)で表される化合物およびその製造方法であり、さらに該化合物を有効成分として含有してなる抗酸化薬である。

認定・付加情報

特許出願の番号	特願2003-109665
受付番号	50300617775
書類名	特許願
担当官	第六担当上席
作成日	0095 平成15年 4月15日

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】

【識別番号】 000004307

【住所又は居所】 東京都千代田区大手町2丁目2番1号

【氏名又は名称】 日本曹達株式会社

【代理人】

【識別番号】 100107984

【住所又は居所】 東京都港区赤坂二丁目8番5号 若林ビル3階

廣田特許事務所

廣田 雅紀

特願2003-109665

ページ： 1/E

出願人履歴情報

識別番号

[000004307]

1. 変更年月日

[変更理由]

住 所

氏 名

1990年 8月22日

新規登録

東京都千代田区大手町2丁目2番1号

日本曹達株式会社

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.